



(19) BUNDESREPUBLIK  
DEUTSCHLAND



DEUTSCHES  
PATENT- UND  
MARKENAMT

(12) **Offenlegungsschrift**  
(10) **DE 197 30 132 A 1**

(51) Int. Cl. 6:  
**G 01 N 33/543**  
G 01 N 33/15  
C 12 Q 1/37  
// G01N 33/577,  
27/414,C12Q 1/44

(21) Aktenzeichen: 197 30 132.0  
(22) Anmeldetag: 14. 7. 97  
(13) Offenlegungstag: 11. 2. 99

<p>(71) Anmelder: Fraunhofer-Gesellschaft zur Förderung der angewandten Forschung eV, 80636 München, DE</p> <p>(74) Vertreter: Fritzsche, T., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat., Pat.-Anw., 80333 München</p>	<p>(72) Erfinder: Hauck, Sabine, Dr., 81543 München, DE; Wolf, Hans, Prof. Dr., 82319 Starnberg, DE; Drost, Stephan, Dr., 81241 München, DE</p> <p>(56) Entgegenhaltungen: WO 93 23 432 KÖSSLINGER, C. (u.a.), In: Fresenius J. Anal. Chem., 1994, Bd. 349, S. 349-354; SCHELLER, F. und SCHUBERT, F.: "Biosensoren", 1989, Birhäuser Verlag, Basel (u.a.), S. 255-279; LEIDL, A., (u.a.), In: "Proceedings of the 2nd International Symposium on Miniaturized Total Analysis Systems µTAS96, Basel, 1996, S. 231; Prusiner, S. B. (u.a.), In: Biochemistry, 1982, Bd. 21, S. 6942-6950; Prusiner, S. B. (u.a.), In: Cell, 1984, Bd. 38, S. 127-134;</p>
---	--

**Die folgenden Angaben sind den vom Anmelder eingereichten Unterlagen entnommen**

Prüfungsantrag gem. § 44 PatG ist gestellt

(54) Verfahren zum Nachweis von Prionen sowie eine Vorrichtung hierzu

(57) Es wird ein Verfahren zum Nachweis von Erregern der spongiformen Enzephalopathie aus einem ggf. pathologische und physiologische Prion-Isoformen enthaltenden biologischen Material beschrieben. Dabei wird mittels einer limitierten Proteolyse die physiologische Isoform verdaut und die pathologische Isoform mittels eines Immunoassays nachgewiesen. Das Verfahren zeichnet sich dadurch aus, daß man die pathologische Isoform an einem festphasengebundenen Antikörper immobilisiert und dann mittels einem weiteren markierten Antikörper, einem optischen Detektor, einer Immunquarzkristallmikrowaage und/oder einem Oberflächenwellenelement detektiert. Eine Vorrichtung zur Durchführung dieses Verfahrens weist ein Reaktorelement auf, das eine immobilisierte Protease, insbesondere Proteinase K sowie vorzugsweise immobilisierte Lipasen enthält.

DE 197 30 132 A 1

DE 197 30 132 A 1

## Beschreibung

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Nachweis von Prionen, insbesondere Erregern der spongiformen Enzephalopathie, sowie eine Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens.

Prionerkrankungen wie die Formen der spongiformen Enzephalopathie können sowohl durch vererbte genetische Defekte entstehen als auch über noch nicht vollständig verstandene Infektionswege erworben werden. Darüber hinaus treten sie auch als spontane Mutationsformen bestimmter Prionproteine auf. Iatogene Infektionswege entstehen durch Behandlung mit Wachstumshormonen, Gonadotropin, Hornhauttransplantationen. Auch die Verwendung von nicht ausreichend sterilisiertem chirurgischen Material stellt eine mögliche Infektionsquelle dar.

Die 33 bis 35 kD großen Prionproteine (abgekürzt PrP) kommen in einer natürlichen physiologischen Isoform sowie in einer pathologisch infektiösen Isoform vor, wobei die infektiöse Isoform durch eine Umfaltung der tertiären Raumstruktur aus der nichtinfektiösen physiologischen Form entsteht.

Aus Prusiner et al., Cell 38, 127 (1984) sowie Biochemistry 21, 6942 (1982) ist es bereits bekannt, daß Prionproteine einer partiellen Proteolyse zugänglich sind. Dabei hat es sich gezeigt, daß die natürliche physiologische Isoform nahezu vollständig einer Proteolyse zugänglich ist, wohingegen die pathologische Form sich lediglich bis zu einer Größe von 27 bis 30 kD abbauen läßt. Diese einer weiteren Proteolyse nicht zugängliche Proteinform wird als ein gegen Protease beständiger Kern bezeichnet. Sie entsteht durch Abbau von 67 Aminosäuren am NH<sub>2</sub>-Terminus und besteht selbst aus 141 Aminosäuren.

Es sind auch bereits Verfahren zum Nachweis der pathologischen Prion-Isoformen beschrieben worden. So beschreibt beispielsweise Collinge et al. in Lancet, Vol. 349, S. 99 (1997) einen Westernblot-Test unter Verwendung eines monokonalen Anti-Prionprotein Antikörpers 3F4.

Prusiner et al., Cell 63, 673 bis 686 (1990) beschreiben einen als ELISA bezeichneten Immunoblot, wobei das zu untersuchende Material zuerst auf Nitrocellulose aufgetragen und dann mittels einem biotinylierten 13A5-monokonalen Antikörper und Peroxidase-konjugiertem Streptavidin indirekt nachgewiesen wird. Der Anteil an infektiösem pathologischen Protein wird durch Verdauen mit Proteinase K und anschließender Immunreaktion mittels den zuvor beschriebenen Antikörpern bestimmt.

Es sind auch bereits eine Vielzahl von Antikörpern beschrieben, die sowohl gegen die physiologische als auch gegen die pathologische Form gerichtet sind. So können beispielsweise Maus-spezifische PrP-Antikörper in syrischen Hamstern gewonnen werden, die wöchentlich mit  $5 \times 10^7$  MoCHO-Zellen, welche das rekombinante membrangebundene MOPrP<sup>c</sup> exprimieren, immunisiert wurden. Das Antiserum kann bereits nach 4 Injektionen gewonnen werden und reagiert mit MoPrP, jedoch nicht mit HaPrP (Prusiner aaO). Weitere Antikörper, die gegen Prionprotein gerichtet sind, werden beispielsweise in Barry und Prusiner J. Infect. Dis. 154, 518-521 (1986); Barry et al., J. Immunol. (1985), 135, 603-613; Bockmann et al., Ann. Neurol. (1987), 21, 589-595; Gabizon et al., (1988), PNAS, USA 85, 6617-6621 sowie in einer Übersicht von Prusiner et al., Cell (1990) 63, 673-686 mit weiteren Verweisen beschrieben.

Die zuvor beschriebenen Methoden mittels Auftrennen durch Elektrophorese bzw. Immobilisierung an Membranen, insbesondere Nitrocellulose-Membranen und anschließender Bestimmung mittels Anti-PrP-Antiserum ist jedoch als Methode für Reihenuntersuchungen aufgrund der notwendigen Arbeits- und Zeitintensität nicht geeignet. Aufgrund der enormen Bedrohung der Bevölkerung durch eine mögliche Übertragbarkeit von spongiformen Enzephalopathien besteht daher ein großer Bedarf an einem schnellen Nachweis-

5 verfahren für Prionen, beispielsweise in der Human- und Veterinärdiagnostik, wobei in entnommenen Körperflüssigkeiten und Gewebeproben die pathologische Prion-Isoform qualitativ und quantitativ nachgewiesen werden kann. Ein besonderer Bedarf besteht an einem sog. direkten Nachweis,

10 bei dem das Prion nicht mittels durch Marker erzeugten sekundären Stoffen bestimmt wird.

Dieses Ziel wird durch ein Verfahren gemäß Anspruch 1 gelöst.

Das erfundungsgemäße Verfahren zum qualitativen und/ 15 oder quantitativen Nachweis von infektiösen Proteinen (Prionen) aus einem ggf. infektiöse pathologische und nicht-infektiöse physiologische Isoformen des Prionprotein enthaltenden biologischen Material wird dcart durchgeführt, daß man mittels einer begrenzten Proteolyse die nicht- 20 infektiöse, physiologische Isoform verdaut und die infektiöse pathologische Isoform durch einen Immunassay nachweist. Das erfundungsgemäße Verfahren ist nun dadurch gekennzeichnet, daß man die infektiöse Isoform mittels einem Antikörper immobilisiert, der an eine feste Phase 25 gebunden ist und dann mittels einem weiteren, insbesondere markierten Antikörper, einem optischen Detektor oder mittels einer Immunquarzmikrowage oder einem Oberflächenwellenelement detektiert.

Der Nachweis mittels markierter Antikörper basiert auf 30 dem klassischen Sandwich-ELISA, wie er dem Fachmann bekannt ist. Dabei weist der Antikörper einen entsprechenden Marker auf, der ein nachweisbares Signal erzeugt wodurch das gesuchte Prionprotein indirekt nachgewiesen wird. Als Marker werden üblicherweise radioaktive, lumineszierende oder fluoreszierende Substanzen und insbesondere Enzyme verwendet, welche ein Signal wie eine pH-Verschiebung oder eingefärbten oder lichtaussendendes Produkt bilden. Die gefärbten Produkte lassen sich dann mittels eines optischen Detektors nachweisen. Als besonders geeignet hat sich auch die Verwendung von pH-verschiebenden Markerenzymen wie beispielsweise Urease erwiesen. Die hierbei mit der Analytenkonzentration korrelierende pH-Änderung läßt sich dann insbesondere mit ionenselektiven Feldeffekt-Transistoren (ISFET) detektieren.

45 Optische Detektoren zum direkten Nachweis sind integrierte Wellenleiter, Glasfasern, optische Gitterkoppler und Oberflächenplasmonresonatoren, wie sie beispielsweise von F. Aberl und H. Wolf in "Aktuelle Trends in der Immunsensorik", Labor 2000, S. 70-76 (1993) oder J. van Gent et al., "Design and Realization of a Surface Plasmon Resonance-based Chemo-Optical Sensor", Sensors and Actuators, Vol. A 25-27, (1991), S. 449-452, beschrieben sind.

Bei einem integrierten Wellenleiter führen ein oder mehrere Bereiche an der Oberfläche eines planaren Substrates 50 Licht. Dies wird dadurch erreicht, daß der lichtführende Bereich eine höhere Brechzahl n aufweist als die umgebenden Bereiche. Ein kleiner Anteil des Lichtes dringt jedoch an der Grenze des lichtführenden Bereiches zum umgebenden Material in dieses wie z. B. einem Substrat oder einer darüber befindlichen Flüssigkeit. Dieser Anteil wird das evanescente Feld genannt. Die Lichtintensität dieses Feldes klingt exponentiell mit dem Abstand vom lichtführenden Bereich ab. Finden an einer derartigen Grenze des Wellenleiters Immunreaktionen statt, so ändert sich dadurch der Brechungsindex der Immunschicht und somit das Ausbreitungsverhalten (Geschwindigkeit oder Absorption) der Welle.

Bei einer Glasfaser wird das Licht im Kern geführt. Dieser ist im allgemeinen von einer Umhüllung mit kleinerem

Brechungsindex umgeben. Wird die Umhüllung an einer Stelle entfernt und dort eine Immunschicht aufgebracht, so können wie beim integrierten Wellenleiter Immunreaktionen zu einer messbaren Änderung der Welle insgesamt führen.

Auch beim optischen Gitterkoppler wird das evaneszente Feld ausgenutzt. Der Unterschied gegenüber einem integrierten Wellenleiter besteht in der Einkoppelung des Lichtes. Beim optischen Gitterkoppler wird ein Laserstrahl über ein eingeprägtes Beugungsgitter in den lichtführenden Film eingekoppelt. Am Ausgang der lichtleitenden Schicht wird die Intensität in Abhängigkeit des Einstrahlwinkels gemessen. Eine Verschiebung des Winkels, bei dem sich ein Intensitätsmaximum am Detektor einstellt, lässt Rückschlüsse auf stattfindende Adsorptionsvorgänge im evaneszenten Feld des lichtführenden Films zu. Der umgekehrte Lichtweg – Einkopplung direkt in das Substrat und Auskopplung über ein Gitter – ist ebenfalls möglich.

Die Oberflächenplasmonresonanz (englisch surface plasmon resonance genannt) tritt auf, wenn Licht an einem dünnen Metallfilm reflektiert wird. Unter einem bestimmten Einstrahlwinkel (dem Resonanzwinkel) werden vom Licht Schwingungen der Elektronen (dieses Schwingungen nennt man Plasmonen) angeregt. Dies führt zu einem Intensitätsminimum des reflektierten Lichtstrahls. Die üblicherweise verwendete Anordnung besteht aus einem Glasprisma, das mit einem dünnen Gold- oder Silberfilm bedeckt ist. Kommt es innerhalb eines oberflächennahen Bereiches des Metallfilms (Eindringtiefe der evaneszenten Welle der Oberflächenplasmonen) zur Adsorption von Proteinen, so führt dies aufgrund der Veränderung des Brechungsindexes oder der Dielektrizitätskonstante zu einer deutlich messbaren Verschiebung des Resonanzwinkels.

Als ebenfalls besonders geeignet hat sich die direkte Messung mittels piezoelektrischen Schwingquarzen und Oberflächenwellenelementen erwiesen, welche als Mikrowaagen verwendet werden können. Dabei werden auf einem piezoelektrischen Substrat wie einem Quarz mittels Interdigital-Transducern elektro-akustische Wellen erzeugt und detektiert. Kommt nun ein derartiger Quarz mit einem angrenzenden Medium zusammen, so führt dies zu einer Änderung der Ausbreitungsgeschwindigkeit bzw. zu einer Änderung der Amplitude der erzeugten Wellen. Auf diese Weise lassen sich Änderungen von mechanischen Eigenschaften des zu messenden Mediums wie Viskosität, Dichte und insbesondere Masse sowie Änderungen von elektrischen Eigenschaften, wie Leitfähigkeit und Dielektrizität, durch eine Änderung der erzeugten Wellen direkt nachweisen. Als ganz besonders geeignet haben sich hierbei Oberflächenwellensensoren erwiesen, wie sie beispielsweise von A. Leidl, A. Bruhn, E. Yacoub-George und S. Drost in "Proceedings of the 2nd International Symposium on miniaturized total analysis system μTAS '96", Basel, 19. bis 22. November 1996, S. 231 sowie von A. Leidl et al. in "Special Issue of 'Smart Materials and Structures' on 'SAW Devices and their Application'", voraussichtlich August 1997 beschrieben sind.

Quarzkristallmikrowaagen, wie sie von C. Kößlinger et al. H. Fresenius J. Anal. Chem. (1994), 349, 349–354 beschrieben sind, haben sich insbesondere zum Immunnachweis als ganz besonders geeignet erwiesen. Bei beiden obigen Sensoren werden prionenspezifische Antikörper auf der Oberfläche des Quarzkristalles immobilisiert. Beim Auftreten von zu untersuchenden Flüssigkeiten werden, sofern vorhanden, Prion-Antigene dann vom quarzgebundenen Antikörper selektiv gebunden. Dies führt zu einer Massenänderung der Quarzoberfläche, die mit dem zuvor beschriebenen Signal detektiert werden kann. Da die Massenzunahme direkt der Menge des immobilisierten Prions ent-

spricht, kann auf diese Weise der Nachweis direkt durchgeführt werden, ohne daß dabei die sekundäre Bildung von Markerstoffen bestimmt werden muß. Diese Empfindlichkeit läßt sich durch eine zusätzliche spezifische Massenerhöhung wie beispielsweise die Verwendung eines zweiten Antikörpers, der an eine weitere antigene Determinante des Prion-Antigens bindet, noch weiter steigern.

Das im erfindungsgemäßen Verfahren einzusetzende biologische Material kann sowohl lebenden als auch toten Individuen entnommen werden. Bevorzugte Organe sind hierbei Hirn und zentrales Nervengewebe, lymphatisches Gewebe, insbesondere lymphatischer Rachenring wie Tonsillen, Thymusgewebe, sowie Milz. Die limitierte Proteolyse kann mit sämtlichen proteinaspaltenden Mitteln, insbesondere Enzymen durchgeführt werden, welche die physiologische Isoform der Prionen abbauen, die pathologische Isoform jedoch im wesentlichen nicht angreifen. Ein Protein wird erfindungsgemäß dann im wesentlichen nicht angegriffen oder abgebaut, wenn nach der Proteolyse ein immunologisch wirksamer, beständiger Rest der Aminosäurekette verbleibt. Auch eine milde Proteolyse mittels Alkali wie KOH hat sich als zweckmäßig erwiesen. Bevorzugt ist es jedoch, die Proteolyse mit Proteinase K durchzuführen.

Nach Durchführung des Testes kann der Detektor, also der festphasengebundene Antikörper bzw. die Immunquarzkristallmikrowaage oder das Oberflächenwellenelement mittels einer geeigneten Regenerationslösung gespült werden, wobei die beim Test immobilisierten Prionen und Reagenzien wieder abgelöst bzw. mobilisiert und entfernt werden. Geeignete Reagenzlösungen sind beispielsweise Salzlösungen mit einer geeigneten Ionenstärke und/oder einem geeigneten pH-Wert.

Die im erfindungsgemäßen Verfahren zu verwendenden Antikörper sind entweder gemäß den eingangs geschilderten Verfahren nach dem Stand der Technik erhältlich oder durch Immunisierung von priondefekten Tieren zu gewinnen. Auf diese Weise ist es sogar möglich, Antikörper zu erhalten, welche selektiv gegen das Aminoende des proteolyse-resistenten Kernes der pathologischen Isoform gerichtet sind. Besonders bevorzugt ist es, monoklonale Antikörper zu verwenden.

Die Erfindung betrifft auch eine Vorrichtung zur Durchführung des erfindungsgemäßen Verfahrens. Die Vorrichtung umfaßt einen Detektor, insbesondere einen ionenseitiven Feldeffekt-Transistor (ISFET), Schwingquarz, Oberflächenwellenelement (SAW-Sensoren), Elektroden oder die zuvor beschriebenen optischen Detektoren sowie ein Reaktorelement zur Vorbereitung der Probe. Das Reaktorelement enthält die notwendigen Reagenzien. In einer zweckmäßigen Ausgestaltung enthält das Reaktorelement eine immobilisierte Protease, insbesondere immobilisierte Proteinase K. Auch die Verwendung von Lipasen, insbesondere immobilisierten Lipasen hat sich als zweckmäßig erwiesen. In einer besonderen Ausführungsform sind die Reagenzien, insbesondere die Enzyme, kovalent an einen Träger, insbesondere Kieselgel sowie Siliziumverbindungen wie Borosilikatgläser (Pyrex®), SiO<sub>2</sub>, Si<sub>3</sub>N<sub>4</sub>, SiC oder Metallschichten wie Au oder Pt oder Kunststoffen wie Polymethacrylate gebunden. Als eine geeignete Immobilisierungstechnik hat sich die kovalente Bindung mittels Aminoorganooalkyloxysilan und Glutardialdehyd, insbesondere auch die Bindung mittels kovalent an das Enzym gebundene Biotin an Streptavidin, das an einer oben genannten Festphase immobilisiert ist, erwiesen, wie es beispielsweise in H. Weetal et al. in Methods in Enzymology, 34 (1974), 59 beschrieben ist.

Es ist auch möglich, das Reaktorelement derart auszustalten, daß es immobilisierte Anti-Prion-Antikörper aufweist. Auch hier ist wieder ein bevorzugter Träger Kiesel-

gel. Beim erfindungsgemäßen Verfahren wird dann die zu untersuchende Probe vor oder nach der Verdauung mit Proteinase K auf die immobilisierten Antikörper aufgetragen und dann vorzugsweise von ungebundenen Bestandteilen befreit. Nach der Immobilisierung wird dann gegebenenfalls 5 nach Proteolyse der gebundenen physiologischen nicht-infektiösen Prionen die verbleibenden immobilisierten pathologischen Prionproteine mittels eines weiteren einen Marker tragenden Antikörpers markiert und mit einer Reaktionslösung versehen. Das durch den Marker, insbesondere Enzymmarker gebildete Reaktionsprodukt läßt sich dann mittels 10 optischen oder ISFET-Detektoren wie beschrieben nachweisen.

## Patentansprüche

15

1. Verfahren zum Nachweis von Erregern der spongiformen Enzephalopathie aus einem ggfs. pathologische und physiologische Prion-Isoformen enthaltenden biologischen Material, wobei mittels einer limitierten Proteolyse die physiologische Isoform verdaut und die pathologische Isoform mittels eines Immunassays nachgewiesen wird, dadurch gekennzeichnet, daß man die pathologische Isoform an einem festphasengebundenen Antikörper immobilisiert und dann mittels einem weiteren markierten Antikörper, einem optischen Detektor, einer Immunquarzkristallmikrowaage und/oder einem Oberflächenwellenelement detektiert. 20
2. Verfahren nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die spongiforme Enzephalopathie BSE, Scrapie, Creutzfeldt-Jakob, Kuru-Kuru, Gerstmann-Sträussler-Syndrom und/oder Alzheimer ist. 30
3. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das biologische Material aus lymphatischem Gewebe, Thymus-Gewebe, 35 Milz, Medulla oblongata und/oder Hirn stammt.
4. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß das lymphatische Gewebe der lymphatische Rachenring, insbesondere die Tonsillen sind. 40
5. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß die limitierte Proteolyse mittels Proteinase K durchgeführt wird. 45
6. Verfahren nach einem der vorhergehenden Ansprüche, dadurch gekennzeichnet, daß man einen Antikörper verwendet, der gegen den Kern der proteasebeständigen Isoform gerichtet ist. 50
7. Verfahren nach Anspruch 6, dadurch gekennzeichnet, daß man einen Antikörper verwendet, der gegen das NH<sub>2</sub>-terminale Ende des Kernes gerichtet ist. 55
8. Vorrichtung zum Nachweis von Erregern der spongiformen Enzephalopathie, umfassend ein Reaktorelement zur Vorbereitung der zu untersuchenden Probe, sowie einen Detektor, wobei das Reaktorelement zumindest einen Teil der notwendigen Reagenzien enthält, dadurch gekennzeichnet, daß das Reaktorelement eine immobilisierte Protease enthält, die die physiologische Prion-Isoformen zumindest einer limitierten Proteolyse unterwirft, und der Detektor ausgewählt ist aus einem markierten Antikörper, einer Immunquarzkristallmikrowaage, einem Oberflächenwellenelement und/oder einem optischen Detektor. 60
9. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß die immobilisierte Protease Proteinase K ist. 65
10. Vorrichtung nach einem der Ansprüche 8 oder 9, dadurch gekennzeichnet, daß die Protease an einem Trägermaterial immobilisiert ist, das Silizium und/oder

eine Siliziumverbindung umfaßt.

11. Vorrichtung nach Anspruch 8, dadurch gekennzeichnet, daß sie ein zweites Reaktorelement mit einem immobilisierten ersten Anti-Prion-Antikörper aufweist, wobei die Bindung eines Prions an diesen ersten Antikörper mittels einem weiteren markierten Antikörper nachweisbar ist.

12. Vorrichtung nach Anspruch 11, dadurch gekennzeichnet, daß der immobilisierte Anti-Prion-Antikörper gegen das aminotermrale Ende des Kerns der gegeen Protease beständigen Isoform gerichtet ist.

**DELPHION**

No active tr.

Select CR



RESEARCH

PRODUCTS

INSIDE DELPHION

Log Out Work Files Saved Searches

My Account

Search: Quick/Number Boolean Advanced Der

**The Delphion Integrated View**Get Now:  PDF | More choices...Tools: Add to Work File:  Create new Work File

View: Expand Details | INPADOC | Jump to: Top

 Go to: Derwent Email

>Title: **DE19730132A1: Detecting organisms causing spongiform encephalopathy - in pathological and physiological prion iso-form-containing material comprises enzymatically digesting prion which have been fixed via antibodies to solid phase**  
 [German]

Derwent Title: Detecting organisms causing spongiform encephalopathy - in pathological and physiological prion iso-form-containing material comprises enzymatically digesting prion which have been fixed via antibodies to solid phase  
[\[Derwent Record\]](#)

Country: DE Germany

Kind: A1 Document Laid open (First Publication) (See also: [DE19730132C2](#))

Inventor: Hauck, Sabine, Dr.; Muenchen, Germany 81543  
 Wolf, Hans, Prof. Dr.; Starnberg, Germany 82319  
 Drost, Stephan, Dr.; Muenchen, Germany 81241

Assignee: Fraunhofer-Gesellschaft zur Foerderung der angewandten Forschung eV, 80636 Muenchen, DE  
[News](#), [Profiles](#), [Stocks](#) and More about this company

Published / Filed: 1999-02-11 / 1997-07-14

Application Number:

DE1997019730132

IPC Code:

[G01N 33/543](#); [G01N 33/15](#); [C12Q 1/37](#)Priority Number: 1997-07-14 [DE1997019730132](#)

Attorney, Agent or Firm: Fritzsche, T., Dipl.-Chem. Dr.rer.nat., Patentanwalt ; , Muenchen 80333

INPADOC Legal Status:

[Show legal status actions](#) Get Now: [Family Legal Status Report](#)

Family:

[Show 2 known family members](#)

Description

[Expand description](#)

±

Die Erfindung betrifft ein Verfahren zum Nachweis von Prionen, insbesondere Erregern der spongiformen Enzephalopathie, sowie eine Vorrichtung zur Durchführung des Verfahrens.

First Claim:

Show all claims 1. Verfahren zum Nachweis von Erregern der spongiformen Enzephalopathie aus einem ggfs. pathologische und physiologische Prion-Isoformen enthaltenden biologischen Material, wobei mittels einer limitierten Proteolyse die physiologische Isoform verdaut und die pathologische Isoform mittels eines Immunassays nachgewiesen wird, dadurch gekennzeichnet, daß man die pathologische Isoform an einem festphasengebundenen Antikörper immobilisiert und dann mittels einem weiteren markierten Antikörper, einem optischen Detektor, einer Immunquarzkristallmikrowaage und/oder einem Oberflächenwellenelement detektiert.

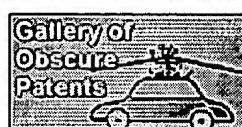
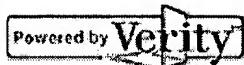
This Page Blank (uspto)

Foreign References:

PDF	Publication	Date	IPC Code	Assignee	Title
	WO9323432		C07K 13/00	INSTITUTO NAZIONALE NEUROLOGICO C. BESTA	SOLUBLE PRION POLY AND METHODS FOR DI AND PURIFYING THEREI

 Other Abstract Info:

CHEMABS 130(13)165166Z CHEMABS 130(13)165166Z DERABS C1999-133161 DE C1999-133161



Nominate this for the Gall...

**THOMSON**  
★Copyright © 1997-2005 The Tho  
[Subscriptions](#) | [Web Seminars](#) | [Privacy](#) | [Terms & Conditions](#) | [Site Map](#) | [Contact U](#)

This Page Blank (uspto)

No active tr.

**Select CR****St****DELPHION****RESEARCH****PRODUCTS****INSIDE DELPHION**

Log Out Work Files Saved Searches

My Account

Search: Quick/Number Boolean Advanced Der

**Derwent Record****E-mail**View: [Expand Details](#) Go to: [Delphion Integrated View](#)Tools: Add to Work File: [Create new Work File](#)

- Derwent Title: Detecting organisms causing spongiform encephalopathy - in pathological and physiological prion iso-form-containing material comprises enzymatically digesting prion which have been fixed via antibodies to solid phase
- Original Title:  DE19730132A1: Verfahren zum Nachweis von Prionen sowie eine Vorrichtung hierzu
- Assignee: **FRAUNHOFER GES FOERDERUNG ANGEWANDTEN**  
Standard company  
Other publications from **FRAUNHOFER GES FOERDERUNG ANGEWANDTEN (FRAU)**...
- Inventor: DROST S; HAUCK S; WOLF H;
- Accession/Update: 1999-133161 / 200008
- IPC Code: G01N 33/543 ; C12Q 1/37 ; G01N 33/15 ;
- Derwent Classes: B04; C06; D16; J04; S03; S05;
- Manual Codes: B04-G01(Antibody defined in terms of antigen general and other) , B04-N02(Animal protein/polypeptide (no sequence)) , B11-C07A(Antigen - antibody reaction [general]) , B12-K04A5 (Diagnosis of cns disorders) , C04-G01(General and other) , C04-N02(Animal protein/polypeptide (no sequence)) , C11-C07A(Antigen - antibody reaction general) , C12-K04A5 (Diagnosis of CNS disorders) , D05-H04(Newly discovered, testing of, isolation of, identification of and detection of bacteria) , D05-H11(Antibodies) , J04-B01(Analytical methods/equipment [general]) , S03-E14H4(Immunoassay) , S05-C03(Medical analysis of biological tissues)
- Derwent Abstract: (DE19730132A) A method for determining the presence of spongiform encephalopathy (SE) causing organisms in a biological material containing pathological and physiological prion isoforms, comprises: (a) digesting the physiological prion isoform via limited proteolysis, and (b) determining the pathological isoforms via immunoassay by immobilising the pathological prion isoform via an antibody to a solid phase, marking the prions with a second labelled antibody and detecting the label optically, by immuno-resin crystal microscale and/or surface wave-frequency elements. Also claimed is a device for carrying out the method above comprising reactor elements for the preparation of the test material, reagents, antibodies and detector elements.  
Use - The method is used to detect bovine SE, scrapie, Creutzfeldt-Jacob disease, kuru kuru, Gerstmann-Sträussler-syndrome and/or Alzheimer's disease (all claimed).

Dwg.0/0

Family:	PDF Patent	Pub. Date	Derwent Update	Pages	Language	IPC Code
	<input checked="" type="checkbox"/> DE19730132A1 * 1999-02-11		199912	4	German	G01N 33/543

This Page Blank (uspto)

Local appls.: DE1997001030132 Filed:1997-07-14 (97DE-1030132)

DE19730132C2 = 2000-01-20 200008 4 German G01N 33/543

Local appls.: DE1997001030132 Filed:1997-07-14 (97DE-1030132)

INPADOC [Show legal status actions](#)

Legal Status:

First Claim: [Show all claims](#)

1. Verfahren zum Nachweis von Erregern der spongiformen Enzephalopathie aus einem ggfs. pathologische und physiologische Prion-Isoformen enthaltenden biologischen Material, wobei mittels einer limitierten Proteolyse die physiologische Isoform verdaut und die pathologische Isoform mittels eines Immunassays nachgewiesen wird, dadurch gekennzeichnet, daß man die pathologische Isoform an einem festphasengebundenen Antikörper immobilisiert und dann mittels einem weiteren markierten Antikörper, einem optischen Detektor, einer Immunquarzkristallmikrowaage und/oder einem Oberflächenwellenelement detektiert.

Priority Number:

<a href="#">Application Number</a>	<a href="#">Filed</a>	<a href="#">Original Title</a>
------------------------------------	-----------------------	--------------------------------

This Page Blank (uspto)